Ueber das Verhalten des Typhusbacillus im Brunnenwasser.

Von

Dr. Justyn Karliński

aus Krakau.

(Aus dem hygienischen Institut der kgl. Universität zu München.)

Das seiner Zeit von Thukydides ausgesprengte Märchen von vergifteten Brunnen als Ursache einer Pestepidemie in Athen, spukt bis jetzt in Gestalt der Trinkwassertheorie in der Wissenschaft. Die Richtigkeit der durch ihre Anhänger vertretenen Anschauungen trachtet man einerseits durch zahlreiche Notizen über Auffinden pathogener Bacterien im Trinkwasser zur Zeit einer Epidemie, andererseits durch Untersuchungen über das Verhalten pathogener Bacterien im Wasser zu bekräftigen.

Abgesehen von zahlreichen Fällen, wo bei Ausbruch einer Typhusepidemie das Trinkwasser, ohne dass der specifische Erreger aufgefunden wurde, beschuldigt ward, haben: Michael[1]), Moers[2]), Gambucci[3]), Chantemesse-Widal[4]), Dreyfuss-Widal[5]),

1) Michael, Typhusbacillus im Trinkwasser. Fortschr. der Medicin 1886 Nr. 11.

2) Moers, Die Brunnen der Stadt Mühlheim a. Rh. vom bacteriologischen Standpunkt betrachtet. Ergänzungshefte z. Centralbl. f. allg. Gesundheitspflege 1886 Bd. 2 Heft 2.

3) Gambucci, Ileotyphus durch Trinkwasser. Ref. in der deutsch. med. Wochenschrift 1887 S. 367.

4) Chantemesse-Widal, Examen bactériologique de l'eau de Pierrefonds, emise p. M. Brouardel annales d'hyg. publique 1887 Nr. 1 und Compt. rend. 1886 t. 103 Nr. 24; L'eau de rivière et la fièvre typhique à Paris. Bul. de la soc. d. med. 1887 Nr. 3; Le bacille typhique. Gaz. hebd. de med. 1887 p. 146—150.

5) Dreyfuss Brisac et Widal: Epidemie de famille de fièvre typhoide (cinq malades) considérations cliniques et recherches bactériologiques. Gaz. hebd. 1886 Nr. 45.

Marpman[1]), Beumer[2]), Kowalski[3]), Camara-Rocha[4]), Thoinot[5]), Rollet[6]), Boudet[7]), de Blasi[8]), Loir[9]) die Auffindung der Typhusbacillen im Brunnen-, Leitungs- und Flusswasser behauptet und dieselbe mit der Ausbreitung der Epidemie in Zusammenhang zu bringen versucht.

Wenn wir aus dieser Reihe die Notiz Marpman's, dessen Befund schon nach seiner eigenen Beschreibung dafür zeugt, dass der Verfasser wahrscheinlich nie eine echte Typhusbacillencultur gesehen hat, ausscheiden, bleibt immer eine ansehnliche Reihe von Autoren, gegen deren Befundbeschreibung nichts einzuwenden wäre, immer genug, den Trinkwassertheoretikern eine erwünschte Stütze zu geben. Auf sie stützte sich z. B. Brouardel beim letzten hygienischen Congress in Wien bei seinem berühmten Ausspruch: dass 9/10 aller Typhusepidemien dem Trinkwasser zuzuschreiben sind.

Die Frage nach dem Verhalten der pathogenen Bacterien im Trinkwasser ist schon wiederholt experimentell geprüft. Die Untersuchungen Wolffhügel-Riedels/Bolton's, Kraus' und die des Verfassers sind den Lesern des Archivs bekannt. Die Untersuchungen Wolffhügel-Riedel's und Bolton's, so werthvoll auch ihre Resultate in der Frage nach dem Verhalten der pathogenen Bacterien in destillirtem oder filtrirtem,

1) Marpman, Typhusbacillus im Trinkwasser. Ergänzungsheft z. Centralbl. f. allg. Gesundheitspflege Bd. 2 Heft 4.

2) Beumer, Zur Aetiologie des Typhus abdominalis. Deutsche med. Wochenschr. 1887 Nr. 28.

3) Kowalski, Wiener klinische Wochenschr. 1888 Nr. 10 u. ff.

4) Camara-Rocha, Investigacão do. Bacillus typhicus nas aguas potareis de Coimbra 1888.

5) Thoinot, Sur la présence du bacille de la fièvre typhoide das l'eau de la Seine à Ivry. La semaine médicale 1887 Nr. 14 p. 138.

6) Rollet, Epidémie de fièvre typhoide à l'école normale et au collège de Cluny. Lyon medic. 1887 Nr. 47, 48.

7) Boudet, Relation d'une épidémie de fièvre typhoide, au point de vue de l'étiologie. Lyon medic. 1887 Nr. 52.

8) de Blasi, L' aqua potabile comme mezzo di tramissione della febbre tipfoidea. (Rivista internat. di med. e chir. 1887 Nr. 8.)

9) Loir, Recherches du bacille typhique dans les eaux d'alimentation de la ville de Paris. (Annales de l'institut Pasteur 1887.)

immer aber sterilisrtem und in Temperatur von 15 bis 35 ° C. aufbewahrtem Wasser sein können, lassen sich nie zur Beantwortung der Frage nach dem Verhalten derselben Mikroorganismen im Trinkwasser verwerthen; die an dieser Stelle mitgetheilten Ergebnisse der Untersuchungen von Dr. Kraus und des Verfassers nähern sich schon bedeutend den normalen Bedingungen, da sowohl die Temperatur des Wassers wie auch die Thätigkeit der Wasserbacterien berücksichtigt wurde. Dieselben lassen sich meines Erachtens nach trotzdem nicht in dem Maasse ausdehnen, dass man aus ihnen Schlüsse in Betreff der Richtigkeit oder Verwerflichkeit der Trinkwassertheorie ziehen könnte. Die Ergebnisse zeigen nämlich nur: dass die pathogenen Pilze bei der Temperatur 10½ oder 8° C. in nichtsterilisirtem, aber auch in nichterneuertem Wasser dem Einflusse der Wasserbacterien und der Temperatur sehr kurze Zeit Trotz zu bieten im Stande sind. Dabei kommt jedoch in Betracht, dass sich sowohl bei den Untersuchungen von Dr. Kraus, wie auch bei den meinigen, die vorhandenen Wasserkeime auf Kosten der eingeführten pathogenen Mikroorganismen rapid vermehrten, was vermuthlich nie unter den normalen Bedingungen in einer Quelle, einem Brunnen oder Reservoir der Fall sein kann.

Im Anschluss an meine bereits mitgetheilten Untersuchungen, unternahm ich im pathologischen Institut zu Innsbruck einige Versuche, um mich über das Verhalten der Wasserbacterien im Brunnenwasser zu vergewissern; speciell um festzustellen, inwiefern die Menge derselben zeitlichen Schwankungen, eventuell einer Vermehrung unterworfen ist.

Zu diesem Zwecke machte ich 26 Tage hindurch täglich bacteriologische Untersuchungen des Wassers, welches aus dem im dortigen Institute vorhandenen, im grobkörnigen, porösen Boden gegrabenen, etwa 800 l fassenden Brunnen, entnommen wurde. Dieselben ergaben, dass die Anzahl der vorhandenen Keime zwischen 36 bis 41 bei täglicher Entnahme von 30 bis 60 l des als Nutzwasser verwendeten Wassers, schwankte. Derselbe Brunnen wurde im September 1888 vom Gebrauch ausgeschlossen und zeigte, nach nachfolgender Entnahme der Probe (d. h. nachdem unmittelbar

vorher 3 Minuten lang gepumpt wurde), dass die Anzahl der Wasserkeime zwischen 68 bis 81 pro 1 ccm schwankte, aber schon am nächsten Tage bewegte sich, nachdem der Brunnen wieder wie gewöhnlich benützt wurde, die Anzahl der vorhandenen Keime innerhalb der ursprünglichen Grenzen. Bei einem andern Versuche wurde der Brunnen durch vier sehr heisse Tage ebenfalls nicht benützt, da beherbergten die ersten entnommenen, und wahrscheinlich aus den Röhren stammenden Proben ca. 160 Keime pro 1 ccm. Nach 5 Minuten langem Pumpen betrug die Zahl der Wasserkeime 46 pro 1 ccm. Diese 2 Versuche belehrten mich, dass die Vermehrung der Keime im Brunnen, wenn sie überhaupt stattgefunden hat, nur eine minimale, und mit der im Erlmayer'schen Kolben gefundenen Vermehrung nicht zu vergleichen war. Um das Verhalten der pathogenen Mikroorganismen unter normalen Bedingungen studieren zu können, ergab sich die Nothwendigkeit, einige Versuche direct mit dem Brunnenwasser anzustellen, und auf Anregung des Herrn Geheimrathes Prof. Dr. v. Pettenkofer unternahm ich im hygienischen Institut zu München eine Reihe von Untersuchungen, wobei mir ein im Hofe des Institutes befindlicher Brunnen zur Verfügung gestellt wurde. Meine Experimente, aus nicht von mir abhängigen Gründen nur auf den Typhusbacillus beschränkt, bestanden darin, dass eine entsprechende Menge von Reinculturen dem Brunnen direct zugesetzt, und dass das Verhalten der pathogenen Keime gegenüber den Wasserbacterien (ihre eventuelle Zu- oder Abnahme) durch das Plattenverfahren täglich studiert wurde.

Der zu nachstehenden Untersuchungen benutzte Brunnen beherbergt durchschnittlich 680 l Wasser. Die Schwankungen der Wassermenge wie auch der Temperatur (8,3 bis 11° C. im October, November, December, Januar) wurden täglich festgestellt und notirt. Wie mich die täglich vorgenommene chemische Untersuchung belehrte, schwankt die Menge des Gesammtrückstandes zwischen **764** bis **770** mg, der organischen Substanzen zwischen **2,2** bis **2,4** mg, des Chlors zwischen **23** bis **24,1** mg, der Salpetersäure **76** bis **78** mg im Liter; das Wasser war meistens klar, ohne auffälligen Geruch oder Geschmack. Die ebenfalls täglich vorge-

nommenen bacteriologischen Untersuchungen zeigten, dass die Anzahl der vorhandenen Wasserkeime zwischen 730 bis 1120 pro 1 ccm in jenen Monaten schwankte, und in fünf, manchmal in acht Arten repräsentirt war. Was die Arten der vorgefundenen Wasserbacterien anbelangt, so waren dies fast durchwegs Stäbchenbacterien, von denen die Mehrzahl in verschieden langer Zeit die 8 proc. Nährgelatine verflüssigte. Durch ein recht oftmaliges Auftreten zeichneten sich besonders zwei Proteus-Arten aus, die eine scheint mit dem Proteus vulgaris identisch zu sein, während die andere zierliche, gelbe, rankenförmige und mit einem Schwärmerkranz umgebene Colonien bildete, die mässig rasch unter Bildung eines orangegelben Farbstoffes die Gelatine verflüssigten. Von den festwachsenden Arten waren zwei, die zu einer gelegentlichen Verwechslung mit Typhusbacillen Anlass geben konnten. Beide bildeten auf der Gelatine zarte, weisse, wenig erhabene, hirnwindungsartig gefaltete und rissige Colonien, deren Ansehen und Ausbreitung denen des typischen Typhusbacillus sehr ähnlich waren. Eine Differenzirung war allerdings nicht schwer, da die eine Art schon nach 3- bis 4 tägigem Bestehen sich als ein weisser, grün fluorescirender Bacillus erwies, die andere, in derselben Zeit, unter dem gleichzeitigen Verschwinden der Faltung der Oberfläche, zuerst einen lichten, dann dunkelgelben Farbenton der centralen Partie annahm. Auf Kartoffeln bildete dieselbe constant einen braunen saftigen Rasen, und verflüssigte neutrale oder saure 5 proc. Fleischextractpeptonzuckergelatine, ausserdem erwiesen sich die jene Colonien bildenden Stäbchen bewegungslos.

Die Auffindung dieser Art, die wechselnd, mitunter recht zahlreich vertreten war, mahnte zu grosser Vorsicht bei nachherigen Zählungen der wirklich vorhandenen Typhuscolonien, und als die einzig richtige Methode, etwaigen Fehlern vorzubeugen, schien mir eine genaue, auf mehrere Tage ausgedehnte, mikroskopische Musterung der aufgefundenen Colonien, die Vergleichung mit typischen Typhusplattenculturen, sehr zahlreiches Abimpfen der gefundenen und verdächtigen Colonien, sowie die separate Abzählung aller, ihrem Aussehen nach verdächtigen, was alles, wie ich schon im voraus bemerke, in den nachfolgenden

Untersuchungen mit vielen Schwierigkeiten und Zeitverlust verbunden war. Für die mir dabei zu Theil gewordene Hilfe des Herrn Prof. Dr. Emmerich, der die Güte hatte, meine vorgenommenen Untersuchungen und Zählungsergebnisse zu controliren, sage ich hiermit meinen verbindlichsten Dank.

Versuch I.

5 l Bouillon wurden mit je einer Bouilloneprouvettencultur des Typhusbacillus inficirt, und durch 4 Tage im Thermostaten bei Temperatur 35° C. belassen, nachher mittels einer Flasche in den Brunnen versenkt und ausgeschüttelt. Das Wasser des Brunnens wurde dann mit Hilfe einer entprechend langen, und mit einer Rührvorrichtung armirten Stange während einiger Minuten tüchtig umgerührt.

Einige aus dem inficirten Bouillonnährboden entnommene Proben, bei Anwendung der entsprechenden Verdünnung zu Plattenculturen verwendet, zeigten, dass in 1 ccm des Nährbodens ca. 72 Millionen Typhuskeime enthalten waren[1]. Die chemische Zusammensetzung des Brunnenwassers vor Zugabe der Typhusbacillen war folgende:

In 1 l Wasser waren in Milligramm:

Gesammt-Rückstand	Chlor	Salpeter-säure	Sauerstoffverbrauch zur Oxydation der organischen Substanzen
764	24	78	2,26

2 Stunden nach der Zugabe (8. Nov. 1888) wurden Proben zur bacteriologischen Untersuchung entnommen. Auf den mit verschiedenen Wassermengen hergestellten Platten kamen 500000 Typhusbacillencolonien pro 1 ccm zur Entwickelung. Andere Wasserkeime wurden auf den 14 an diesem Tage gegossenen Platten trotz dem zweiwöchentlichen Aufheben niemals wahrgenommen.

Am nächsten Tage (9. Nov.) zeigte die chemische Analyse folgende Zusammensetzung des Wassers:

In 1 l Wasser waren in Milligramm:

Gesammt-Rückstand	Chlor	Salpeter-säure	Sauerstoffverbrauch zur Oxydation der organischen Substanzen
800	400	78	70

Wassermenge und Temperatur (10,6° C.) blieben die gleichen wie am Vortage. Die Platten zeigen eine Zunahme von Colonien der Wasserbacterien, darunter 130000 pro 1 ccm deutlicher Typhusbacillencolonien. Die Anzahl

1) Zum Plattenverfahren wurde durch entsprechende Verdünnung kaum **0,0001** ccm des ursprünglichen Nährbodens verwendet.

der Wasserbacterien schwankte zwischen 11 und 13000 pro 1 ccm. Sowohl an diesem wie am Vortage wurden je 28 Abimpfungen der den typischen Typhusbacillencolonien ähnlichen Colonien vorgenommen, die sich bei weiterer Differenzirung als solche erwiesen.

Am 10. Nov. (3. Versuchstag) beherbergten die Platten im ganzen **110 000** Colonien pro 1 ccm, darunter **18000**, welche durch ihr Aussehen an Typhuscolonien erinnerten[1]). Die chemische Zusammensetzung zeigte:

In 1 l Wasser waren in Milligramm:

Gesammt-Rückstand	Chlor	Salpeter-säure	Sauerstoffverbrauch zur Oxydation der organischen Substanzen
810	36	78	60

Wassertemperatur **10,7 ° C.**, Wassermenge im Brunnen **655** (gegen 670 an den beiden vorigen Tagen).

Am 4. Versuchstage waren auf den Platten ca. 100000 Colonien pro 1 ccm zu zählen, darunter 9400 typhusverdächtige Colonien, welche in grosser Anzahl, behufs weiterer Differenzirung abgeimpft wurden.

Am 11. Nov. ergab die chemische Analyse, welche durch den niponischen Stabsarzt Dr. Koike ausgeführt wurde:

Milligramm pro 1 l Wasser:

Gesammt-Rückstand	Chlor	Salpeter-säure	Sauerstoffverbrauch zur Oxydation der organischen Substanzen
798	35	60	13,0

Am 5. Versuchstage (12. Nov.) glichen die Wassermenge und die Temperatur vollkommen denen des ersten Versuchstages.

In 1 l Wasser waren in Milligramm:

Gesammt-Rückstand	Chlor	Salpeter-säure	Sauerstoffverbrauch zur Oxydation der organischen Substanzen
782	32	68	10,8

Die Platten zeigen fast durchwegs verflüssigende Arten, deren Anzahl am 3. Tage nach dem Ausgiessen gezählt 200 000 pro 1 ccm betrug, worunter kaum 22000 festwachsende und keine einzige typhusähnliche vertreten war.

Am 6. Versuchstage (13. Nov.) beherbergten die Platten 117 Colonien überhaupt, darunter 700 typhusverdächtige. Die chemische Zusammensetzung zeigte:

---

1) Wegen zu rascher Verflüssigung der Platten konnten dieselben nicht länger als 6 Tage aufgehoben werden, wobei entschieden die Hälfte der Verdächtigen dem oben erwähnten fluorescirenden Bacillus zugerechnet werden müssen.

In 1 l Wasser waren in Milligramm:

Gesammt-Rückstand	Chlor	Salpetersäure	Sauerstoffverbrauch zur Oxydation der organischen Substanzen
780	26	73,2	5,5

Wassermenge 671 l, Temperatur 10,6° C.

Am 14. Nov. (7. Versuchstag) enthielt 1 ccm Wasser 80000 Colonien überhaupt und darunter 200, deren Aussehen an die Typhuscolonien erinnerte; an diesem Tage waren

in 1 l Wasser in Milligramm:

Gesammt-Rückstand	Chlor	Salpetersäure	Sauerstoffverbrauch zur Oxydation der organischen Substanzen
780	24	70,4	3,3

Wassermenge 668 l, Temperatur 10,4° C.

Am 8. Versuchstage (15. Nov.) ergab die chemische Untersuchung

in 1 l Wasser in Milligramm:

Gesammt-Rückstand	Chlor	Salpetersäure	Sauerstoffverbrauch zur Oxydation der organischen Substanzen
781	23	69,6	3,0

und unter 60000 Colonien, die sich aus 1 ccm Wasser entwickelten, kaum 100 typhusverdächtige. An diesem Tage, wie auch an den nachfolgenden, wurde mittels der, mit der Rührvorrichtung armirten Stange, sowohl das Wasser, wie auch der Brunnenbodensatz, kurz vor der Probenentnahme tüchtig umgerührt.

Am 9. Versuchstage (16. Nov.) war die Anzahl der aus 1 ccm zur Entwickelung gelangten Colonien 23000, darunter kaum 40 typhusähnliche. Die chemische Zusammensetzung zeigte

Milligramm pro 1 l Wasser:

Gesammt-Rückstand	Chlor	Salpetersäure	Sauerstoffverbrauch zur Oxydation der organischen Substanzen
776	22,6	70,8	3,0

Wassermenge im Brunnen 670 l, Temperatur 10,3° C.

Am 10. Versuchstage (17. Nov.) zeigten die Platten unter 18000 Colonien pro 1 ccm, kaum 20 typhusverdächtige. In der chemischen Zusammensetzung liess sich nur eine Zunahme im Chlorgehalte (24 mg) gegenüber dem vorigen Tage wahrnehmen. Die Wassermenge und die Temperatur blieben dieselben.

Am 18. Nov. (11. Versuchstag) waren auf den Platten **7000** Colonien und darunter keine 5 typhusverdächtige pro 1 ccm zu zählen. Die chemische Zusammensetzung, wie auch Wassermenge und Temperatur blieben dieselben wie am vorigen Tage.

Am 12. Versuchstage war die chemische Zusammensetzung folgende:

In 1 l Wasser waren in Milligramm:

Gesammt-Rückstand	Chlor	Salpeter-säure	Sauerstoffverbrauch zur Oxydation der organischen Substanzen
780,2	24,0	78,0	2,9

Wassermenge **665**, Temperatur **10,0**° C. Unter **4000** Colonien pro 1 ccm keine einzige, die am 5. Tage nach dem Ausgiessen der Platten den Typhuscolonien ähnlich wäre.

Am 20. Nov. (13. Versuchstag) waren auf den Platten **1900** Colonien pro 1 ccm zu zählen, von denen keine am 4. Tage seit dem Ausgiessen der Platten dem Aussehen nach dem Typhus gleich war. Die chemische Zusammensetzung gleich der vom vorigen Tage.

Am 21. Nov. (14. Versuchstag) betrug die Menge des Gesammtrückstandes **779**, organische Substanz **2,6**, Chlor **24.6**, Salpetersäure **74.0** mg, Wassermenge **668** l, Temperatur **10**° C. Die Anzahl der Colonien pro 1 ccm = 900, darunter keine typhusverdächtige.

Wie schon erwähnt, wurden an jedem Beobachtungstage eine grössere Anzahl der typhusverdächtigen Colonien abgeimpft und auf verschiedenen Nährboden behufs Differenzirung gezüchtet. Es stellte sich dabei heraus, dass nur die am 8. und 9. November abgeimpften (1. und 2. Versuchstag) den Typhusbacillen entsprachen, alle übrigen liessen sich leicht als nicht mit Typhus identische erkennen; und zwar verflüssigten die 5 proc. neutrale Nährgelatine die Colonien, die am 10., 12., 14. November als typhusverdächtig auf den entsprechenden Platten aufgefunden und abgeimpft wurden. Die Colonien, die als typhusverdächtig von den Platten, welche am 11., 16., 17. und 18. November gegossen wurden, abgeimpft waren, bildeten auf Kartoffelscheiben saftigen braunen Rasen, wogegen die, welche von den Platten, die am 14. Versuchstage gegossen wurden, abgeimpft worden waren, eine ausgesprochene Fluorescenz nach längerem Bestehen zeigten.

Dieser Versuch zeigt, dass eine grosse Anzahl von Typhusbacillen, welche zugleich mit dem entsprechenden Nährboden

in den Brunnen eingeführt wurde, bereits nach 2 Tagen im Kampfe mit den sich rapid vermehrenden Wasserbacterien unterliegt, und schon in den nächstfolgenden Tagen gar nicht mehr nachweisbar ist.

Aus den soeben angegebenen Ergebnissen der chemischen Wasseranalyse ist der Einfluss des in den Brunnen eingeführten Nährbodens auf die Wasserzusammensetzung unverkennbar und daraus ist es leicht erklärlich, dass die Wasserbacterien, Dank der Nahrungszufuhr, sich exquisit vermehrt haben.

Die numerische Vermehrung einzelner Wasserbacterien konnte in diesem Versuche, besonders in den 2 oben erwähnten schwärmenden Proteusarten leicht dargelegt werden. Während dieselben vor der Zugabe der Bouillon in 11 bis 21 Exemplaren pro 1 ccm unter 810 bis 1100 sonstigen Wasserkeimen vorkamen, konnte man im Laufe dieses Versuches vom 3. Tage an eine ständige numerische Zunahme derselben wahrnehmen, so war z. B. der orangegelbe Proteus am 11. November in 11000, am 15. November in 6300 Colonien pro 1 ccm vertreten, während der sonst an Typhus erinnernde, später grün fluorescirende, festwachsende Bacillus, welcher vor der Zugabe des Nährbodens in 17 bis 23 Colonien pro 1 ccm vorkam, am 4. Beobachtungstage in 200 und am 11. Beobachtungstage in 2 Colonien pro 1 ccm vertreten war.

Versuch II.

Nachdem in den nachfolgenden 8 Tagen die Anzahl der Wasserbacterien sich, wie dies die täglich vorgenommenen Zählungen bewiesen, innerhalb der normalen Grenzen (780 bis 1100 Keime pro 1 ccm) bewegte und die chemische Analyse fast constant folgende Zusammensetzung des Wassers: Gesammtrückstand 780 mg, Sauerstoffverbrauch zur Oxydation der organischen Substanzen 2,8 mg, Chlor 23,1 mg, Salpetersäure 75,1 mg pro 1000 ccm zeigte, goss ich am 29. November 400 ccm einer Typhusaufschwemmung in den Brunnen. Diese Aufschwemmung wurde aus dem Pilzrasen, welcher auf 24 schräg erstarrten Gelatineculturen und 6 Agarculturen aufgewachsen war, mit der oben angegebenen Menge sterilen destillirten Wassers bereitet, und beherbergte 1 ccm desselben, wie dies die mit entsprechender Verdünnung hergestellten Plattenculturen zeigten, ca. 9 000 000 Keime. Bei Bereitung wurde sorgfältigst jede Zugabe des Nährbodens vermieden, das Ganze, nach Hinzufügen zum Brunnen, tüchtig umgerührt.

Nach 4 Stunden entnommene Wasserproben zeigten pro 1 ccm 5900 Keime (gegen 1125 vor der Zugabe) und darunter 4700 exquisite Typhuscolonien.

Die chemische Analyse vor und nach der Zugabe der Typhusaufschwemmung blieb sich gleich und zwar waren in 1 l Wasser 776,1 mg Gesammtrückstand, 25 mg Chlor und 77,1 mg Salpetersäure enthalten; 2,2 mg Sauerstoff zur Oxydation der organischeu Substanzen nothwendig.

Nach 24 Stunden (2. Versuchstag am 30. Nov.) war die Zahl der Colonien in 1 ccm 3900, darunter 1600 Typhuscolonien, überhaupt gegenüber dem Vortage waren die verflüssigenden Arten zahlreicher vertreten. Die chemische Zusammensetzung des Wassers war an diesem Tage

Milligramm pro 1000 ccm Wasser:

Gesammt-Rückstand	Chlor	Salpeter-säure	Sauerstoffverbrauch zur Oxydation der organischen Substanzen
776,1	25	77,1	2, 2

Am 3. Versuchstage (1. Dec.) war die Anzahl der in 1 ccm Wasser enthaltenen Keime 3200, darunter 800 Typhuscolonien. Die chemische Zusammensetzung zeigte nur im Gesammtrückstand (743 mg) und in Salpetersäure (62,3 mg) eine Differenz gegen den vorigen Tag.

Am 2. Dec. (4. Versuchstag) war die chemische Zusammensetzung des Wassers folgende:

In 1 l Wasser waren in Milligramm:

Gesammt-Rückstand	Chlor	Salpeter-säure	Sauerstoffverbrauch zur Oxydation der organischen Substanzen
730,6	21	61,0	2,2

Die Anzahl der Colonien in 1 ccm war 2600, darunter 100, welche positiv als Typhusbacillencolonien erkannt werden konnten.

Am 5. Versuchstage (3. Dec.) war die chemische Zusammensetzung des Wassers fast die gleiche wie die am Vortage. In 1 ccm Wasser waren 2200 und darunter 30, die bis zum 4. Beobachtungstage den Typhuscolonien ähnlich waren, sich aber späterhin als einer anderen Bacterienart zugehörig erwiesen haben.

Am 6. Versuchstage (4. Dec.) war die chemische Zusammenstellung folgende:

In 1 l Wasser waren in Milligramm:

Gesammt-Rückstand	Chlor	Salpeter-säure	Sauerstoffverbrauch zur Oxydation der organischen Substanzen
742	21,6	59,6	2,3

Die Bacterienanzahl in 1 ccm war 1800, darunter keine einzige, die irgendwelchen Anlass zur Verwechslung mit Typhuscolonien geben konnte.

Am 5. Dec. (7. Versuchstag) war die chemische Zusammensetzung die gleiche wie am Vortage und unter 1300 Colonien pro 1 ccm keine einzige Typhuscolonie.

Am 8. Versuchstage (6. Dec.) war die chemische Zusammensetzung: Es waren in 1 l Wasser in Milligramm:

Gesammt-Rückstand	Chlor	Salpeter-säure	Sauerstoffverbrauch zur Oxydation der organischen Substanzen
744	22,0	58,6	2,2

und unter 1100 Colonien in 1 ccm ebenfalls keine einzige Typhuscolonie.

In diesen Versuchen vermochten die eingeführten Typhusbacillen sich im ganzen 3 × 24 Stunden zu halten, ihre Idendität wurde jedesmal durch zahlreiche Abimpfungen und Kartoffelculturen festgestellt.

Es muss bemerkt werden, dass während des ganzen Versuches mehrmals täglich mittels einer Rührvorrichtung das ganze Brunnenwasser sammt Bodensatz tüchtig umgerührt wurde, dass die tägliche, bei Probenentnahme ausgepumpte Wassermenge ca. 30 l pro Tag belief, und dass der Wasserstand des Brunnens keine erheblichen Schwankungen zeigte. Die Temperatur des Wassers schwankte zwischen 9,4 bis 9,7 ° C.

Versuch III.

Nachdem durch die folgenden 7 Tage die chemische Zusammensetzung des Wassers und die Anzahl der vorhandenen Wasserkeime sich innerhalb der oben angegebenen Grenzen bewegten, wurde am 13. Dec. eine neue Typhusaufschwemmung dem Brunnen zugesetzt und tüchtig umgerührt. Die Typhusaufschwemmung wurde aus dem Pilzrasen von 14 Gelatinetyphusculturen mit 250 ccm Wasser hergestellt, und die Anzahl der in derselben vorhandenen Typhuskeime muss als eine sehr grosse angesehen werden, da 1 ccm 5600000 Keime enthielt. Nach 4 Stunden entnommene Wasserproben beherbergten nebst einer kleinen Anzahl von Colonien der Wasserbacterien 3000 Typhuscolonien.

Am 2. Versuchstage (14. Dec.) waren in 1 ccm Wasser 3600 Colonien vorhanden, darunter 2400 Typhuscolonien. Die chemische Zusammensetzung des Wassers war folgende:

In 1 l Wasser waren in Milligramm:

Gesammt-Rückstand	Chlor	Salpeter-säure	Sauerstoffverbrauch zur Oxydation der organischen Substanzen
746,2	23	59,6	2,1

Am 15. Dec. (3. Versuchstag) war die chemische Zusammensetzung gleich der des Vortages, und unter 2400 Colonien überhaupt 900 Typhuscolonien pro 1 ccm.

Am 4. Versuchstage (16. Dec.) waren unter den 2000 in 1 ccm enthaltenen Keimen 26 typische Typhuscolonien zu finden. Die obenerwähnte gelben Farbstoff producirende Proteusart war an diesem Tage sehr stark vertreten.

Am 5. Versuchstage (17. Dec.) waren unter den 1800 Colonien, die aus 1 ccm Wasser auf den Platten zur Entwickelung gelangten, keine einzige, die denen der Typhusbacillen ähnlich war. Die chemische Zusammensetzung zeigte:

In 1 l Wasser waren in Milligramm:

Gesammt-Rückstand	Chlor	Salpeter-säure	Sauerstoffverbrauch zur Oxydation der organischen Substanzen
751,2	23	60,1	2,1

Am 6. Versuchstage (18. Dec.) ergab sowohl die chemische Analyse wie auch die bacteriologische Wasseruntersuchung das gleiche Resultat wie am Vortage.

Am 19. Dec. (7. Versuchstag) war unter den 1670 Colonien, die sich aus 1 ccm Wasser entwickelten, 16, die bis zum 5. Beobachtungstage den Typhuscolonien glichen, die sich aber nachher als nicht damit identisch herausstellten.

Am 20. Dec. (8. Versuchstag) zeigte die chemische Analyse, dass in 1 l Wasser 759,6 mg Gesammtrückstand, 2,3 mg organische Substanzen, 23 mg Chlor, 60,1 mg Salpetersäure enthalten waren, und unter 1600 Colonien, die aus 1 ccm gewonnen wurden, keine einzige Typhuscolonie zu finden war.

So wie im Versuch II wurde auch in dieser Versuchsreihe das Brunnenwasser sammt dem Bodensatz mehrmals täglich umgerührt, und die täglich vorgenommene Messung der Wassertemperatur und die des Wasserstandes zeigten keine erhebliche Schwankung gegenüber denen des II. Versuchs. Auch in diesem Versuche vermochte sich der eingeführte Typhusbacillus nur 3 × 24 Stunden im Brunnenwasser zu halten.

Da mir die Menge der eingeführten Typhusbacillen zu gross schien, habe ich in der IV. Versuchsreihe 100 ccm einer aus dem Pilzrasen von 5 Gelatinetyphusculturen bereiteten Aufschwemmung, welche in 1 ccm 2100000 Typhusbacillen beherbergte, am 3. Januar 1889 dem Brunnen zugesetzt. In den nach 3 Stunden entnommenen Wasserproben waren auf den Platten unter 2100 Colonien

überhaupt nur 300 Typhuscolonien pro 1 ccm vorhanden. Am nächstfolgenden Tage (24 Stunden nach der Zugabe) war schon keine einzige Typhuscolonie im Wasser zu finden, dieselben fanden sich ebenfalls nicht, trotz genauer Untersuchung, auf den an den 4 nächsten Tagen gegossenen Platten. Somit waren die in den Brunnen eingeführten Typhusbacillen schon nach 24 Stunden vernichtet.

Soviel mir die einschlägige Literatur bekannt ist, sind ähnliche Untersuchungen mit Ausnahme der gleich zu erwähnenden Versuche Prof. Emmerich's und Dr. Pinto's bis jetzt noch nicht gemacht worden. Die beiden Forscher brachten in den Brunnen des hygienischen Institutes 1 l 48 Stunden alter Bouilloncultur von Typhusbacillen, welche, wie die Plattenculturen zeigten, in 1 ccm 42 000 000 Keime enthielt. In den sofort nach der Zugabe entnommenen Wasserproben war der Typhusbacillus in 200 000 Colonien pro 1 ccm vertreten. Bei der nach 24 Stunden aus dem entnommenen Wasser vorgenommenen Plattenuntersuchung fand man eine reichliche Zunahme der verflüssigenden Arten und darunter 500 Colonien pro 1 ccm, deren Identificirung mit den gesuchten Typhusbacillen positiv ausfiel. Eine 72 Stunden nach der Zugabe unternommene Untersuchung des Wassers mittels der Plattenmethode konnte keine Typhusbacillen im Wasser nachweisen. Ein anderes Mal fügte Emmerich dem Brunnen 0,5 g auf sterilisirtem Lycopodiumpulver eingetrockneter virulenter Milzbrandsporen hinzu, und nachdem das Brunnenwasser tüchtig umgerührt wurde, zeigten die zu Plattenculturen verwendeten Wasserproben 208 Milzbrandkeime pro 1 ccm des Wassers. Nach 12 Stunden wurden ca. 200 l Wasser ausgepumpt und wiederum Proben zur bacteriologischen Unteruchung entnommen. Nunmehr kamen auf den 0,1 ccm des Wassers beschickten Gelatineplatten noch sechs pro 1 ccm, also 60 Milzbrandcolonien zur Entwickelung. In Proben, welche 36 Stunden nach der Beimischung der Milzbrandsporen zum Brunnenwasser entnommen wurden, waren Milzbrandsporen nicht mehr nachweisbar. Auf zehn mit verschiedenen Mengen des Wassers beschickten Gelatineplatten kam keine einzige Milzbrandbacillencolonie zur Entwickelung. Lyco-

podiumsporen waren dagegen noch ziemlich reichlich im Wasser suspendirt. Am 5. Tage nach der Beimischung der Sporen zum Brunnenwasser kamen nochmals auf einzelnen Gelatineplatten Milzbrandbacillencolonien zur Entwickelung und zwar auf der mit 0,1 ccm des Wassers besäten Platte vier Colonien, so dass also 1 ccm der betreffenden Wasserprobe 40 Milzbrandsporen enthielt.

An den darauffolgenden Tagen wurden von 12 zu 12 Stunden Wasserproben aus dem Brunnen entnommen und zur Aussaat auf Gelatineplatten verwendet. Aber auf keiner dieser Platten konnte eine Milzbrandbacillencolonie aufgefunden werden. Die grosse Zahl der in den Brunnen geschütteten Milzbrandsporen war somit schon nach fünf Tagen aus dem Wasser verschwunden, obgleich die Sporen an einem Pulver ausgetrocknet waren, das lange im Wasser suspendirt bleibt.

Der eben erwähnte Versuch wurde mit nahezu dem gleichen Resultat wiederholt. In beiden Fällen wurde das inficirte Wasser an Hammel verfüttert, indem es sowohl zum Tränken der Thiere diente, als auch in möglichst grosser Menge dem Futter beigemischt wurde. Von diesen Thieren ist kein einziges erkrankt, obgleich denselben das inficirte Wasser vier Wochen hindurch gereicht wurde.

Man könnte allerdings den Versuchen mit Typhusbacillen im Brunnen einen anscheinend berechtigten Vorwurf machen, nämlich dass die Anzahl der eingeführten Typhuskeime dennoch zu klein war. Diesem Vorwurf kann ich nur das entgegnen, dass bis jetzt gar keine Untersuchungen über die Zahl der Typhusbacillen in menschlichen Dejectionen vorliegen. Ich habe mich in zwei Fällen bemüht, die specifischen Typhusbacillen in Dejecten der Typhuskranken zu zählen, und obwohl eine so kleine Zahl der Untersuchungen gewiss wenig zur Lösung der aufgeworfenen Frage beitragen kann, lege ich meine diesbezüglichen Untersuchungen bei. 20 ccm flüssigen Stuhles eines im 14. Krankheitstage sich befindenden Patienten wurden mit 200 ccm sterilisirten Wassers und 0,4 g Carbolsäure vermengt und Stunden hindurch im Thermostaten bei Temperatur von 32 ° C. gehalten, während welcher Zeit die ganze Mischung mehrmals umgeschüttelt wurde.

In den aus diesem Gemenge entnommenen und zu Plattenculturen verwendeten Proben entwickelte sich eine verhältnismässig geringe Anzahl von Colonien verschiedener Art; darunter aber typische Typhuscolonien und gesetzten Falls, dass die Mischung eine genaue war, würden auf je 1 ccm des Kothes 41 Colonien Typhusbacillen entfallen.

In diesem Versuche folgte ich der Angabe Chautemesse-Widal's[1]), welche behufs leichter Isolirung der Typhusbacillen auf 600 bis 700 ccm des verdächtigen Wassers 1 g Carbolsäure zusetzten. Diese Carbolzugabe erleichtert, wie ich mich mehrmals zu überzeugen Gelegenheit hatte, wesentlich die Auffindung der Typhusbacillen, für die solche Verdünnung des Desinfectionsmittels indifferent zu sein scheint. Bei einem andern Typhuskranken untersuchte ich mittels derselben Methode vom 5. bis 11. Krankheitstage die Entleerungen auf das Vorkommen der Typhusbacillen in ihnen, und während trotz oftmals vorgenommener Untersuchung in den Entleerungen des 5. bis 9. Krankheitstages absolut keine Typhuscolonien zu finden waren, beherbergte der Stuhl des 10. und 11. Tages (der Patient starb am 12. Krankheitstage) 16 bis 21 Typhuscolonien pro 1 ccm der Entleerung.

Gesetzten Falls, dass unter normalen Verhältnissen, bei Verunreinigung des Trinkwassers durch Stuhlentleerungen der Typhuskranken, die Typhusbacillen wirklich ins Wasser gelangen, so wird die Anzahl derselben gewiss nie so gross sein, wie dies in meinen drei ersten Versuchen der Fall war. Zugleich mit den Typhusbacillen werden aber entsprechende Mengen der Fäcalmassen eingeführt, wodurch den vorhandenen Wasserkeimen eine grosse Menge Nährmaterial zugeführt wird, und dadurch ihre Entwickelungsgeschwindigkeit wesentlich gesteigert und die Vernichtung der weniger resistensen Typhusbacillen wesentlich begünstigt wird.

Vor kurzem hatte ich Gelegenheit, im bacteriologischen Laboratorium des hygienischen Institutes in München eine bacteriologische Untersuchung des uns aus Passau zugeschickten und vom dortigen Nonnenberge herstammenden Leitungswassers vorzunehmen. Auch in diesem Falle wurde von den Behörden

1) Recherches sur le bacille typhique etc. Archiv de physiologie 1887 p. 282.

das dortige Trinkwasser als die Ursache der herrschenden Typhusepidemie angesehen. Die Untersuchung ergab, dass in 1 ccm Wassers 5070 Colonien überhaupt vorkamen, eine verhältnismässig geringe Anzahl, wenn man bedenkt, dass die Flasche, in welcher das Wasser enthalten war, nicht entsprechend keimdicht zugemacht war und dass das Wasser längere Zeit unterwegs war. Unter den gefundenen Wasserkeimen waren einige, deren Aussehen in den ersten acht Beobachtungstagen gewisse Aehnlichkeiten mit den gesuchten Typhusbacillen hatte, die sich aber, mit aller Sicherheit, vermöge ihres Wachsthums, auf verschiedenen Nährböden von den specifischen Typhusbacillen untercheiden liessen.

Ich kann die Zusammenstellung meiner Untersuchungen nicht schliessen, ohne der neuesten in dieses Thema einschlagenden und mir erst nach Beendigung des Obigen zugegangenen Arbeit Erwähnung zu thun. Im ersten Heft der diesjährigen Archive de Médecine expérimentale et d'Anatomie pathologique erschien eine Arbeit der Herren Strauss und Dubarry: »Recherches sur la durée de la vie des microbes pathogènes dans l'eau«, die gewissden Trinkwassertheoretikern erwünscht sein wird.

Die Verfasser setzten sich zur Aufgabe zu erforschen, wie lange pathogene Bacterien sich im Wasser zu halten vermögen; sie ermittelten dies für destillirtes oder filtrirtes, immer aber sterilisirtes Wasser, welches bei Temperatur von 15 bis 20° C. gehalten wurde. Ihre Methode der Untersuchung war folgende: in Flaschen, welche mit sterilisirtem Wasser gefüllt waren, gaben sie kleine Mengen der pathogenen Mikroorganismen, beherbergten das Wasser im Thermostaten und setzten nach verschieden langer Zeit 5 bis 10 ccm Bouillon hinzu. »Selbst wenn die eingeführten Mikroorganismen«, so nehmen die Autoren an, bis auf einen abgestorben sind, so wird doch eine Hinzufügung von Nährbouillon dem am Leben gebliebenen Mikroorganismus die Möglichkeit geben, sich zu vermehren, was durch eine Trübung des Nährbodens zu sehen sein wird. Mittels dieser Methode machten sie eine grosse Reihe von Versuchen mit verschiedenen pathogenen Bacterien. Ihre Resultate nähern sich denen von

Wolffhügel und Bolton, theils fanden sie sogar eine längere Lebensdauer der Bacterien; so z. B. hielt sich der sporenfreie Milzbrandbacillus im sterilisirten Wasser bis zu 131 Tagen, ja er vermochte sogar Sporen zu bilden, wie dies die Autoren mittels einer nicht einwandfreien Methode und ohne mikroskopische Untersuchung bewiesen zu haben glauben. Der Typhusbacillus hält sich bis zu 81 Tagen, Choleraspirillen bis zu 39 Tagen, Tuberkelbacillen bis zu 115, Rotzbacillen bis 57, Streptococcus pyogenes bis 15, der gelbe Traubencoccus bis 21, die Friedländer'schen Pneumoniebacterien bis 8, die Hühnercholerabacterien ebenfalls bis zu 8 Tagen.

Die Verfasser constatiren dann noch am Schlusse ihrer Arbeit die Thatsache, dass die chemische Zusammensetzung des Wassers (ob rein oder reich an unorganischen oder organischen Stoffen) keinen Einfluss auf die Lebensdauer der demselben beigemischten pathogenen Bacterien hat. Sie glauben, dass diese Beobachtung in hygienischer Beziehung von grösster Bedeutung sei, vergessen aber zu erwähnen, dass dieselbe zuerst und viel früher von Kraus's [1]) gemacht und dahin präcisirt wurde: »dass der Untergang der pathogenen Bacterien ebenso rasch in dem reinsten Quellwasser, wie in einem sehr stark verunreinigten Brunnenwasser erfolgt. Weder die chemische Beschaffenheit des Wassers, noch die ursprüngliche Zahl der im Wasser lebenden unschädlichen Bacterien scheint in dieser Beziehung von Bedeutung zu sein«.

Wie schon voraus erwähnt, können diese Ergebnisse von Strauss und Dubary, abgesehen von der Methodik, deren sich die Verfasser bedienten, ebenso wie die von anderen Forschern ausschliesslich mit sterilisirtem Wasser ausgeführten Untersuchungen zur Beantwortung der Frage nach der Rolle des Trinkwassers als Infectionserreger nie verwendet werden. Die Lösung der Frage muss man vielmehr von erneuerten und auch auf andere pathogene Mikroorganismen ausgedehnten Brunnenversuchen erwarten.

München, im Januar 1889.

---

1) Dr. C. Kraus, Ueber das Verhalten pathogener Bacterien im Trinkwasser. Archiv f. Hygiene Bd. 6 S. 251.